

Felipe Moreli Fantacini

**IMPORTÂNCIA DO CANAL ACÚSTICO PARA O PEIXE
CICLÍDEO *METRIACLIMA ZEBRA* EM CONDIÇÃO DE BAIXA
LUMINOSIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do
Grau de Bacharel e Licenciado em
Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César de
Azevedo Simões Lopes - UFSC

Coorientador: Prof. Dr. Joël Attia -
UJM

Florianópolis
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COORDENADORIA DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BIO7016 / TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

1. ESTAGIÁRIO(A)

Nome: Felipe Moreli Fantacini
Número de Matrícula: 07128008

2. ESTÁGIO

Título do Trabalho: IMPORTÂNCIA DO CANAL ACÚSTICO PARA O PEIXE CICLÍDEO
METRIACLIMA ZEBRA EM CONDIÇÃO DE BAIXA LUMINOSIDADE:

Orientador(a): Paulo César de Azevedo Simões Lopes

Coorientador(a): Joel Attia

Período do Estágio: janeiro a junho de 2012

Local da apresentação do Trabalho: Sala de vídeo do ECZ

3. AVALIAÇÃO

BANCA EXAMINADORA:

Presidente: Paulo César de Azevedo Simões Lopes

Nota: 10,0

Membro Titular: Malva Isabel Medina Hernández

Nota: 9,5

Membro Titular: Mauricio Eduardo Graipel

Nota: 10,0

Membro Suplente:

Nota:

MÉDIA FINAL: 10,0 (Dez)

Florianópolis, 14 de agosto de 2012.



PRESIDENTE DA BANCA



MEMBRO TITULAR



MEMBRO TITULAR

MEMBRO SUPLENTE

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é a conclusão de duas importantes etapas de minha vida, duas etapas bem individualizadas, porém indissociáveis. Ele conclui os quase seis anos de Biologia cursados na Universidade Federal de Santa Catarina em Florianópolis e também conclui o ano de intercâmbio acadêmico realizado na Universidade Jean Monnet em Saint-Étienne.

Deste modo, utilizo este espaço para agradecer não apenas a aqueles que colaboraram para a elaboração do TCC, mais também a todos aqueles que contribuíram para meu desenvolvimento pessoal e profissional durante a graduação e intercâmbio e farei estes agradecimentos em duas etapas.

Início com os agradecimentos às pessoas que seguiram minha trajetória na Biologia. Desde que entrei na Biologia tenho trabalhado com ecologia de mamíferos e apesar deste trabalho não ser sobre mamíferos, essa não deixa de ser minha principal formação. Agradeço a Maurício Eduardo Graipel, meu orientador desde a segunda fase. Chácara Edith, Serra do Tabuleiro, Joinville, Araçá, Zimbros, Campos Novos, Lagoa do Peri, Fazenda da Ressacada, quantas aventuras! Quantos dados! Quantos ratos! Propusemos vários projetos, alguns um pouco descabeçados, desenvolvemos boa parte e espero que ainda trabalhem um bom tempo juntos. Meu sincero obrigado Mauricio.

Agradeço também às pessoas que muito me inspiraram dentro da mastozoologia, a Hugo B. Mozerle, amigo que muito me auxiliou e me motivou e a Marcos A. Tortato, com quem muito aprendi ao auxiliar na triagem de material escatológico de gato-do-mato e nos trabalhos de campo na fazenda da EPAGRI/EMBRAPA de Caçador-SC, sendo esta minha primeira experiência em campo utilizando diversas técnicas. Agradeço também a Jorge J. Cherem, com seu jeito sério, me ensinou prontamente a taxidermizar e a identificar roedores!

Agradeço também a Paulo César de Azevedo Simões-Lopes, chefe do LAMaq e orientador “burocrático” deste trabalho. Apesar de nosso contato não ter sido tão direto, seu jeito calmo e centrado e seus conselhos em muito me ajudaram! Ao Paulinho meu muito obrigado! Obrigado ao meu coorientador Joël Attia, que agradeço devidamente junto com os demais que fizeram parte da minha vida na França.

Um muito obrigado a Malva I. Medina Hernández e Walter L. A. dos Santos que aceitaram fazer parte da minha banca.

Agradeço a Fernando Brüggermann, chefe e amigo e ao Hotel Caldas da Imperatriz pela bolsa de estudos entre 2009 e 2011, almoços e todo aprendizado que me foi proporcionado com a experiência de ser

guia das trilhas no hotel! Agradeço a Ninna Granucci que me confiou sua vaga no hotel e a Guilherme Willrich e Rafael Penedo, grandes amigos e companheiros de acordar cedo aos sábados de manhã.

Agradecimento especial ao PET. Obrigado por todos os ensinamentos e desenvolvimento pessoal, pelos Petianos, projetos, cursos, palestras e outros tantos eventos organizados, pela bolsa durante 2008 e 2009, as viagens e até pela PET-burocracia! Um agradecimento especial a Tânia T. Castellani, tutora do PET que nos guiou nessa PET-jornada e com quem sempre podemos contar. Obrigado também a todos os professores por todos os ensinamentos passados ao longo destes anos.

Agradeço à turma 2007.1 da Biologia, turma que convivi durante todos esses anos, obrigado Cecilia, Celeste, Ingrid, Indjara, Kamille, Stefanny, Thais, Mariana, e a todos os outros pela amizade, pelos bons e maus momentos passados juntos. Um obrigado especial a Bruna H. Marcon, grande amiga com a qual dividi momentos importantes nessa trajetória!

Agradeço a todos os amigos que passei junto os melhores momentos na Biologia! Assim agradeço a Laise, companheira de campos malucos, Cássio, Julia Santos, André, Carol, Larissa (Bar), Renatinha, Julia Locatelli, Mariana, Daiane e a todos os demais! Agradeço também aos amigos de Brusque por todos esses anos juntos: Thiago, Sérgio, Adria, Tina, Katiuscia, e demais!

Um agradecimento especial a minha japa e herpetóloga que adoro, Erica N. Saito! Kika! Obrigado por estar aqui comigo e pelo apoio!

Agradeço imensamente à minha família que sempre me apoiou. A minha mãe Vanessa e irmã Mariana, a meus avôs Ligia e Wilson Moreli, a quem devo grande parte do que sou e que nunca nos deixaram na mão. Agradeço à tia Anette Hoffmann e *in memoriam* ao meu bisavô Ernesto Guilherme Hoffmann, ambos me auxiliaram a me manter na Universidade e a realizar o intercâmbio na França. A vocês minha imensa gratidão por tudo que me propiciaram e me ensinaram. Obrigado também ao meu pai Ademir e à minha avó Dalva, que mesmo longe torcem por mim.

Um obrigado especial a todos os animais de estimação e aos selvagens! Estes seres são muito importantes para mim e sem dúvida foram os que me levaram a estudar biologia

Agradeço aos peixes *Metriaclima zebra* que mesmo que quase me deixaram louco pelas infinitas horas de vídeos de comportamento analisados, permitiram a realização deste trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina, que além de tudo, ainda me possibilitou o intercâmbio acadêmico com a Universidade Jean Monnet de Saint-Étienne na França

Maintenant, je remercie les personnes qu'ont été avec moi cette dernière année en France. Ces remerciements ne sont pas seulement là pour la réalisation de ce stage, mais aussi et surtout pour tout cette année incroyable, d'échange, une année avec un grand développement personnel et professionnel et que j'ai pu vivre grâce à un certains nombre de personnes.

Je commence par remercier mon maître de stage Jöel Attia, le premier professeur avec qui j'ai eu un contact, alors que j'étais encore au Brésil et le premier à me recevoir à la Faculté des Sciences et à m'aider à trouver le Master Eco-Etho. Ensuite, il m'a fait confiance pour ce travail de Master 1. Je le remercie pour toute sa patience et pour sa disponibilité et sa volonté de m'aider toujours.

Un grand merci à Nicolas Mathevon pour m'avoir ouvert les portes de son Laboratoire et à toute l'équipe du Laboratoire de Neuro-Ethologie Sensorielle et aussi merci à Nicolas Boyer et à Colette Bouchut qui m'ont toujours aidé dans toutes les situations.

Merci à l'étudiante Romane Cizeron qui était avec moi pendant ce stage et a partagé les interminables heures d'analyse des vidéos de comportement des poissons, et bonne chance pour l'avenir avec tous les prochains vidéos! Merci aux étudiants du Master 1 d'Écologie et Éthologie que m'ont accueilli, surtout à Amélie Fargevielle qui a toujours été très disponible et qui m'a aidé pour les sorties sur le terrain et quand j'avais besoin.

Merci aux professeurs du Master, en particulier à M. Vidal, avec qui j'ai eu un des cours les plus intéressants de toute ma formation en France et au Brésil pendant ces cinq dernières années ! Merci aussi à M. Caissard, coordonnateur du M1.

Merci aux professeurs du SUAPS avec qui j'ai eu des grandes joies: Volleyball, Parapente, Dance de Salon et Rock, Tir, Escalade, Ski et Snowboard! C'était génial!

Merci à l'Université Jean Monnet, au CILEC- Pôle International, à l'association Sa Va et à la France pour m'avoir bien accueilli cette année, et à l'Université Fédérale de Santa Catarina qui m'a offert la possibilité de cet échange universitaire.

Et un vraiment grand merci à ma « famille française » : mes amis ERASMUS (Konstantin, Francine, Irene, Maria Luisa, Johan, Mathias, Santiago, Attia, Janis, Lenka, Lucie, Ieva, Irina, Hui Jeong et les autres) et mes colocataires (Lucas et Sara), avec qui j'ai eu les meilleurs repas,

fêtes, voyages et moments en France ou ailleurs en Europe et en Afrique, et qui ont fait que cette année sera vraiment inoubliable. Merci à tous les autres que je n'ai pu oublié, mais qui sont aussi importants dans ma vie.

RESUMO

Os peixes podem ser solitários ou viver em cardumes mais ou menos hierarquizados. Neste último caso, existe uma necessidade maior de comunicação entre os indivíduos e esta comunicação pode se dar através de diversos canais, entre eles o canal acústico. Os ciclêdeos, como *Metriaclima zebra*, produzem sons no contexto da reprodução e de interações agonísticas, porém a variação diária dessa produção sonora é ainda pouco estudada. O objetivo desse estudo foi, num primeiro momento, descrever, em laboratório, as atividades comportamentais e a produção sonora ao longo de um nictêmero para *Metriaclima zebra*. Filmagens de longa duração (3-4 dias) de dois grupos (primeiro grupo: 22 jovens e adultos; segundo grupo: 12 adultos machos), foram realizadas sob um regime luminoso artificial de 8h de dia (165lx) e 12h de noite (0lx), intercalados com 2h e 2h de crepúsculo (3,2lx). Foram analisadas 72 horas de vídeo: 48 horas (120 sons) para o primeiro grupo e 24 horas (398 sons) para o segundo grupo. Dois tipos principais de sons foram obtidos: (1) sons “multi-pulsos” produzidos durante interações agressivas, (2) sons “bi-pulsos” principalmente noturnos que não puderam ser associados a um comportamento preciso. Em relação às variações nictemerais, foi encontrado um aumento significativo da produção sonora durante a primeira noite para o primeiro grupo, e não houve diferenças significativas de agressividade entre o dia e a noite neste mesmo período. Isto leva a hipótese de que uma maior emissão de sons durante a noite poderia ser emitida para paliar a ausência do canal visual. Para tentar verificar esta hipótese foram feitos experimentos de duelos entre dois machos adultos de *M. zebra* em condição de dia e crepúsculo enviando estímulos sonoros (som de peixe). Estudos anteriores mostram que, de dia, estímulos acústicos provocam uma diminuição da agressividade ao longo de um duelo entre dois machos. Testou-se, portanto, o que ocorreria em baixa luminosidade (crepúsculo). Os primeiros resultados mostram uma diferença significativa no número de atos agressivos sincronizados observados entre as condições dia (165 lx) e crepúsculo (3,2 lx). A condição crepúsculo aparenta dificultar a percepção visual e existem significativamente menos atos agressivos após uma estimulação acústica. Em condição dia não se encontrou esta diferença. Sugere-se que os sons possuem maior importância em interações agressivas em condição de “crepúsculo” que em condição de “dia”.

Palavras-chave: comportamento, interações, comunicação, *playback*.

RÉSUMÉ

Les poissons peuvent vivre tout seul ou en bancs plus ou moins hiérarchisés. Dans ce dernier cas, il y a une plus grande nécessité de communication entre les individus. La communication chez certains poissons peut se faire par le biais du canal acoustique. Les cichlidés, comme *Metriaclicha zebra*, produisent des sons lors de la reproduction et des interactions agonistiques. Le but de cette étude a été dans un premier temps de décrire les activités comportementales et la production sonore au cours d'un nyctémère au laboratoire chez *M. zebra*. Des enregistrements de longue durée de deux groupes (22 jeunes et adultes ; 12 adultes mâles), ont été réalisés sous un régime lumineux artificiel de 8h de jour (165lx) et 12h de nuit (0 lx), avec 2h de crépuscule (3,2 lx) et 2h d'aube (3,2 lx) intercalées. 72 heures de vidéos ont été analysées : 48 heures (120 sons) pour le premier groupe et 24 heures (398 sons) pour le deuxième groupe. Deux types de sons principalement ont été entendus : (1) des sons « multi-pulses » produits lors des interactions agressives, (2) des sons « double-pulse » surtout nocturnes qui n'ont pas pu être reliés à un comportement précis. Concernant les variations nyctémérales, nous avons trouvé une augmentation significative de la production sonore pendant la nuit sur le premier jour du premier groupe, et il n'y avait pas de différences significatives dans le nombre de comportements agressifs entre le jour et la nuit. Cela nous a amené à l'hypothèse qu'un plus grand nombre de sons pourrait être émis de nuit pour pallier l'absence du canal visuel. Pour essayer de vérifier cette hypothèse, nous avons mis en place des expériences de duels entre deux adultes mâles *M. zebra* placés dans des conditions de lumière forte et faible avec l'envoi des stimuli acoustique (bruit de poisson). Des études antérieures ont montré que les stimuli acoustiques provoquent une diminution de l'agressivité au cours d'une interaction agonistique entre deux individus mâles. Nous avons testé, donc la condition « crépuscule ». Nos premiers résultats montrent une différence significative dans le nombre des actes agressifs synchrones observés entre la condition « jour » (165lx) et la condition « crépuscule » (3,2lx). La condition « crépuscule » semble bien gêner la perception visuelle et il y a significativement moins d'actes agressifs après une stimulation acoustique. En condition de « jour », on ne voit pas apparaître une telle différence. En définitive, il semble que le son a une plus grande importance sur l'interaction agressive en condition de « crépuscule » qu'en condition de « jour ».

Mots-clefs: comportement, interaction, communication, *playback*.

ABSTRACT

The fish can live alone or in groups more or less hierarchically. In the latter case, there is a greater need for communication between individuals. Communication in some fish can be done through the acoustic channel. Cichlids, as *Metriaclima zebra*, produce sounds during reproduction and agonistic interactions, however daily variations in sound production of fish has not yet been studied. The purpose of this study was first to describe the behavioural activities and the sound production during a nycthemere at laboratory in *Metriaclima zebra*. Recordings of long duration of two groups (first group: 22 youngs and adults ; second group: 12 adult males) were carried out under an artificial light regimen with 8 hours of light, 12 hours of dark, 2 hours of dusk and 2 hours of dawn. It was analyzed 72 hours of video: 48 hours (120 sounds) for the first group and 24 hours (398 sounds) for the second group. Two main types of sounds were heard: (1) "multi-pulse" sounds produced during aggressive interactions, (2) "double-pulse" sounds especially encountered at night with no clear correlation with behaviours. About diel variations, we found a significant increase in sound production during the first night for the first record and on this part, there were no significant differences in the number of aggressive behaviors between night and day. This led us to the hypothesis that a greater number of sounds could be emitted at night to compensate for the lack of visual channel. To try to test this hypothesis, we set up experiments duels between two adult male *Metriaclima zebra* placed in low or strong light conditions, sending acoustic signals (fish sound). Previous studies have shown that, in strong light, sending acoustic signals leads to a decrease of aggressiveness during an agonistic interaction between two adults males in the fish's specie *Metriaclima zebra*. We tested, therefore, what would happen in "low light". Our first results show a significant difference in the number of synchronous aggressive acts observed in "strong light" condition (165 lx) and "low light" condition (3.2 lx). "Low light" condition seems to bother the visual perception and there are significantly less aggressive acts after an acoustic stimulation. In "day", we don't see such a difference. To conclude, sound seems to be more important for the aggressive interaction in "low light" condition than in "strong light" condition..

Keywords: behavior, interaction, communication, playback.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	19
INTERAÇÕES SOCIAIS E COMUNICAÇÃO EM PEIXES	19
MODELO DE ESTUDO: <i>METRIACLIMA ZEBRA</i>	21
PRODUÇÃO SONORA EM PEIXES CICLÍDEOS	23
RITMOS BIOLÓGICOS EM PEIXES	24
OBJETIVOS	27
OBJETIVO GERAL	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
MATERIAL E MÉTODOS	29
ESTUDO DO CICLO DIÁRIO	29
MODELO BIOLÓGICO E MANUTENÇÃO EM LABORATÓRIO	29
DISPOSITIVOS EXPERIMENTAIS	31
EXPERIMENTO REALIZADO	31
ANÁLISE DAS FILMAGENS	33
Tratamento dos registros de vídeo	33
Tratamento dos registros de áudio	34
ESTUDO DA RESPOSTA AO SINAL ACÚSTICO	35
MODELO BIOLÓGICO E MANUTENÇÃO EM LABORATÓRIO	35
DISPOSITIVOS EXPERIMENTAIS	35
ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA E VISUAL	37
EXPERIMENTO REALIZADO	38
ANÁLISE DA RESPOSTA COMPORTAMENTAL	40
Atos agressivos sincronizados	40
ANÁLISES ESTATÍSTICAS	41
RESULTADOS	43

ESTUDO DA ATIVIDADE CIRCADIANA	43
ANÁLISE QUALITATIVA DA PRODUÇÃO SONORA E DO COMPORTAMENTO AGRESSIVO	43
ANÁLISE QUANTITATIVA DA PRODUÇÃO DO SOM E COMPORTAMENTO AGRESSIVO	44
ESTUDO DA RESPOSTA AO SINAL ACÚSTICO	47
 <u>DISCUSSÃO</u>	 <u>51</u>
 ESTUDO DA ATIVIDADE CIRCADIANA	 51
ANÁLISE QUALITATIVA DO SOM	51
ANÁLISE QUANTITATIVA DO SOM	52
ESTUDO DA RESPOSTA AO SINAL ACÚSTICO	54
 <u>CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS</u>	 <u>57</u>
 <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	 <u>59</u>

APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi desenvolvido durante um estágio no período de intercâmbio acadêmico nos semestres 2011.2/2012.1 com a Universidade Jean Monnet de Saint-Étienne, França.

O Intercâmbio ocorreu através de um acordo bilateral entre a Universidade Federal de Santa Catarina (SINTER – Secretaria de Relações Internacionais) e a Universidade Jean Monnet (Pôle International).

O estágio foi realizado entre os meses de janeiro a junho de 2012, junto ao Laboratório da Equipe de “Neuro-Ethologie Sensorielle” (Centre de Neurosciences Paris-Sud) situado na “Faculté de Sciences e Techniques de Saint-Étienne da Universidade Jean Monnet, sob orientação do Prof. Dr. Joël Attia

Os três últimos meses do estágio foram realizados dentro da carga horária da disciplina de “Experience professionnelle I” do quadro de disciplinas do primeiro ano curso de “Master d’Écologie-Éthologie”, desta universidade. Resultados preliminares foram apresentados nessa disciplina sem validá-la, pois os resultados finais foram apresentados como Trabalho de Conclusão de Curso (BIO7015 e 7016) do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

INTRODUÇÃO

INTERAÇÕES SOCIAIS E COMUNICAÇÃO EM PEIXES

Peixes ósseos é o grupo de vertebrados mais diverso, contando com mais de 32.000 espécies descritas (Fishbase, 2012). Esta diversidade é refletida na diversidade de ambientes explorados, formas corporais, tamanhos, cores, hábitos alimentares, reprodutivos e comportamentais, além das formas de interações e estruturas sociais.

As estruturas sociais em peixes variam de totalmente solitários a grandes cardumes pelágicos, passando por diferentes sistemas de dominância e hierarquias (Hoare & Krause, 2003). Em cardumes hierarquizados, para manter a estrutura social e a estabilidade do grupo, os peixes devem ser capazes de julgar sua posição e a posição dos demais indivíduos. Para isso eles contam com um sistema sensorial e cognitivo elaborado. Este sistema lhes permite perceber estímulos variados (visual, olfativo, acústico), aprender e memorizar informações, reconhecer um congênere, discriminar algo estranho de algo familiar, entre outros (Ali, 1992). Isso significa dizer que eles possuem um sistema neurosensorial que permite o estabelecimento de comunicação entre os indivíduos.

A comunicação animal pode ser definida como a transferência de informações via um sinal (Bertucci, 2011). Este processo comporta diferentes etapas: a produção de um sinal pelo indivíduo emissor, a transmissão deste sinal através de um meio e a recepção do sinal por no mínimo um indivíduo. Durante a transmissão, o sinal pode sofrer modificações diminuindo a qualidade da informação portada (Bertucci, 2011). O receptor decodificará o sinal recebido a fim de extrair a informação e responderá com um comportamento apropriado (figura 1).



Figura 1 Cadeia de transmissão de informação. Um sinal é enviado por um indivíduo emissor a um indivíduo receptor através de um meio. Figura criada a partir de esquema de Bertucci, 2011.

O uso de determinado canal de comunicação vai depender de diferentes fatores, como a capacidade de produção do indivíduo emissor, a informação a transmitir, o destinatário da mensagem e ainda o ambiente através do qual o sinal será transmitido. Cada canal de comunicação possui suas próprias características susceptíveis a conferir vantagens e desvantagens em determinado meio físico, mais pode ser adaptado às condições ambientais como por exemplo, ao mudar e aumentar a intensidade de um sinal acústico em um meio barulhento (Egnor & Hauser, 2006).

Os peixes, assim como outros animais, utilizam uma série de canais de comunicação de maneira concomitante que faz com que a informação seja transmitida através de sinais de diferentes modalidades sensoriais, sendo esta uma comunicação multimodal (Gordon & Uetz, 2011). Dentre os canais utilizados por peixes estão:

- O Canal químico: Este canal depende da troca de moléculas solúveis (e. g.: feromônios, cortisol, ureia) e permite a comunicação a longas distâncias. Em alguns ciclídeos, este canal permite o reconhecimento e avaliação do status social de coespecíficos (Giaquinto & Volpato, 1997; Almeida et al., 2005);

- O Canal visual: É usado por muitas espécies, é normalmente o canal de comunicação preponderante. Graças aos cromatóforos presentes na pele, os peixes podem apresentar diferentes colorações e mudá-las em resposta às alterações do ambiente social e físico ou do seu estado fisiológico (e.g. Kodric-Brown, 1998; O'Connor et al., 2000; Siebeck, 2004; Korzan et al., 2008);

- O Canal elétrico: Poucas espécies são capazes de produzir pulsos elétricos, embora a maioria das espécies possa percebê-los. Os sinais elétricos são usados, entre outros, para defesa, ataque, localização, comunicação (Pough, 2008).

- O Canal mecânico: células ciliadas localizadas ao longo do corpo e, em particular na linha lateral, permitem que os peixes detectem os movimentos do meio líquido (Janssen & Strickler, 2006). Nos peixes formadores de cardumes, esta informação permite a coordenação dos movimentos dos indivíduos para o nado polarizado e sincronizado (Partridge, 1982);

- O canal acústico: alguns peixes são capazes de emitir sons. As principais formas de produção sonora são: friccionando em conjunto os componentes esqueléticos (estrídulação); usando os músculos próximos a bexiga natatória, por mudanças rápidas na velocidade e direção do nado (hidrodinâmica) (Veerappan et al., 2009) ou ainda por batidas das mandíbulas faríngeas (Rice & Lobe, 2002). A comunicação sonora em

peixes permanece ainda pouco compreendida e pouco estudada. Sabe-se que peixes são capazes de produzirem um variado leque de sons por meio de diferentes mecanismos e por diferentes razões. Os sons são produzidos, por exemplo, como aviso contra predadores ou competidores, ou ainda como uma resposta a um evento de espanto. Estes sons, produzidos intencionalmente, são geralmente denominados como vocalizações. Existem outros sons que são produzidos não intencionalmente, tais como aqueles gerados como um subproduto do forrageio ou natação (Veerappan et al., 2009).

Há registros de mais de que 800 espécies de peixes que vocalizam, principalmente entre as famílias Mormyridae, Gadidae, Batrachoididae, Triglidae, Cichlidae, Pomacentridae, Osphronemidae e os sons são diferentes entre as espécies (Amorim, 2006; Veerappan et al., 2009).

Além de diferenças interespecíficas, sinais acústicos produzidos por peixes podem, potencialmente, produzir informações que permitem a discriminação entre os indivíduos das mesmas espécies. Estes sinais podem transmitir informações relacionadas à posição social ou identidade individual e servir no estabelecimento das relações sociais, que mostra que esta forma de comunicação é relativamente sofisticada em peixes (Amorim et al, 2003) .

MODELO DE ESTUDO: *METRIACLIMA ZEBRA*

A família Cichlidae (Perciformes) é uma das maiores famílias de peixes de água doce e uma das maiores entre vertebrados com 1300 espécies descritas e estimativas de 1900 espécies. Sua distribuição geográfica inclui águas continentais da África (900 espécies), vale do Jordão no Oriente Médio (quatro espécies), Iran (uma espécie), Sul da Índia e Sri Lanka (três espécies, inclusive de água salobra), Madagascar (17 espécies, algumas de água salobra também), Sul da América do norte até América do Sul e Caribe (406 espécies) (Kullander, 1998).

Os ciclídeos do lago Niassa, um dos grandes Lagos Africanos, localizado no Vale do Rift, entre Malawi, Tanzânia e Moçambique, constituem um modelo para o estudo do canal acústico entre os peixes, mas também são muito utilizados no domínio da pesquisa em evolução. Eles ilustram um fenômeno excepcional de radiação adaptativa, ou seja, do aparecimento de um grande número de novas espécies a partir de um ancestral comum. Este é um grupo monofilético comprovado de 500 a 1000 espécies (Kornfield & Smith, 2000), que surgiu em um curto período de tempo evolutivo de aproximadamente um milhão de anos

(Moran et al., 1994). Uma explicação para essa especiação é a seleção sexual através da escolha de padrões de colorações distintos pelas fêmeas. Enquanto existem pesquisas que suportam fortemente a importância do estímulo visual na seleção sexual em ciclídeos, a grande variabilidade de sons observados ao nível interespecífico sugere que canal acústico também deve ter desempenhado um papel importante na taxa de especiação (Amorim et al, 2004; Verzijden et al., 2010).

Entre eles *Metriaclima zebra* é uma espécie interessante, pois é capaz de produzir sons. Estes peixes pertencem ao grupo *mbunas*, o grupo mais diversificado entre os peixes ciclídeos do lago Niassa (Smith, 2007) (fig. 2).

Metriaclima zebra (anteriormente chamado de *Pseudotropheus zebra*) é um peixe relativamente pequeno, de 10 cm de comprimento, que possui dimorfismo sexual. As fêmeas são pouco coloridas mostrando tons escurecidos. Já os machos são azulados e geralmente possuem bandas negras verticais pelo corpo, e ocelos amarelos na nadadeira anal. Os machos dominantes, mantem tons de azuis mais claros e possuem ocelos maiores e mais numerosos, que serão percebidos pelas fêmeas como um sinal verdadeiro da qualidade dos machos. As subpopulações apresentam distribuição pontual ao longo do lago e se diferenciam na coloração dependendo da região proveniente (fig. 2).



Figura 2 As diferentes variedades de *M. zebra* e suas localizações no Lago Niassa, vale do Rift, Africa. Os *M. zebra* são zebrados de listras negras e corpo azul. Estes peixes possuem distribuição pontual nos costões rochosos do lago, (extraído de Konings, 2007).

M. zebra ocupa partes rochosas do lago Niassa, onde os recursos alimentares são abundantes. Estes peixes se alimentam raspando as rochas com os dentes, ingerindo, desta maneira, as algas que crescem neste ambiente e junto delas, microrganismos como diatomáceas e invertebrados que fornecem a quantidade necessária de proteína (Konings, 2007).

O sistema de reprodução é poligínico. As fêmeas se abrigam nos ninhos dos machos, e lá incubam seus ovos na própria cavidade bucal por aproximadamente três semanas. Os jovens dispersam muito pouco e os adultos são altamente filopátricos (Bertucci, 2011).

Em seu habitat, a competição se dá principalmente por acesso aos melhores territórios, onde os machos defendem territórios e fêmeas, sem, entretanto, auxiliá-las no cuidado parental. Os repertórios agressivos consistem em uma série de comportamentos mostrados em ordens variadas, com o macho geralmente atacando e seguindo seu rival e adotando algumas posturas como a ereção das nadadeiras e tremores corporais (*quivers*). Estes comportamentos podem evoluir para brigas com contato corporal e mordidas (Amorim et al., 2004). Durante as interações agonísticas, principalmente no início, pode haver a produção de sons.

Durante a corte, os machos exibem comportamentos semelhantes aos de defesa de território, além de movimentos destinados a atrair as fêmeas para os locais de postura. Neste contexto também é observado a produção sonora no início das interações (Bertucci, 2011).

PRODUÇÃO SONORA EM PEIXES CICLÍDEOS

Sabe-se, desde os trabalhos pioneiros de Myrberg e colaboradores em 1965, que um grande número de ciclídeos é capaz de produzir sinais acústicos. Vários trabalhos registram a produção sonora em diferentes espécies da América central e do sul, em espécies dos rios africanos e dos grandes lagos do Vale do Rift, na África (Lobel, 2011; Amorim, 2006; Smith, 2007). Os sons são produzidos quando dois indivíduos estão próximos um do outro. Eles consistem de uma série sucessiva de pulsos sonoros breves e de baixa frequência (100-400 Hz) (Figura 4).

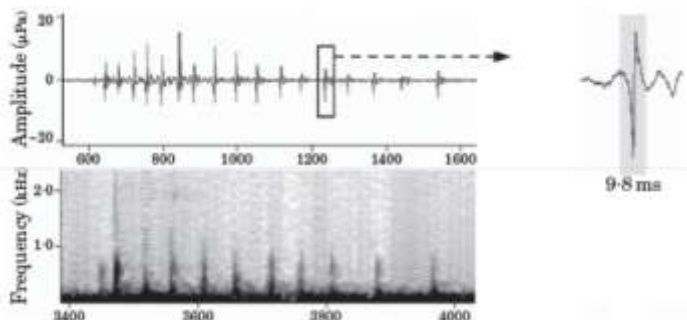


Figura 3 Oscilograma (acima) e sonograma (abaixo) do som emitido por um macho de *Metriaclima zebra* durante a corte. Este som é composto por 18 "pulsos". Um pulso foi isolado para mostrar sua estrutura. A duração dos sons, o número de pulsos por som, a duração de pulsos e a duração inter-pulsos são variáveis para um mesmo indivíduo e entre indivíduos (extraído de Amorim et al., 2004).

Os sons podem ser produzidos por ambos os sexos, particularmente por machos, sempre em interações intraespecíficas, acompanhados de outros comportamentos e exibições corporais (Smith, 2007). Os sons possuem grande variedade interespecífica, e dentro de uma espécie, o repertório é geralmente de um ou dois tipos de sons (Amorim, 2006).

Em *Metriaclima zebra*, estudos mostraram que a produção sonora é utilizada durante a reprodução (Amorim et al., 2004) e durante interações agonísticas (Simões et al., 2008). Amorim e colaboradores (2004) mostraram que os sons são emitidos principalmente em conjunto com comportamentos agonísticos do tipo estremecimento do corpo (*quiver*) e postura de intimidação (*lateral display*).

RITMOS BIOLÓGICOS EM PEIXES

A maioria dos animais apresentam ritmos circadianos de atividade fisiológica e comportamental, ou seja, padrões consistentes de atividade em ciclos de 24 horas que perduram em condições constantes. Os padrões de atividades dos animais podem ser classificados em diurnos, crepusculares ou noturnos (Ali, 1992). Vertebrados, como mamíferos e pássaros são facilmente classificados desta forma, porém peixes mostram maior plasticidade em seus ritmos e picos de atividade. Em várias espécies o sistema circadiano é instável, adaptando-se às condições ambientais (Eriksson, 1978; Muller, 1978; Amorim, 2005).

Isto é particularmente verdadeiro para peixes de água doce, que são considerados generalistas sensoriais, uma vez que peixes marinhos considerados especialistas sensoriais, são fortemente circadianos, menos plásticos e com período de repouso, pois estariam em desvantagem sensorial em determinados períodos do dia (Reebs, 2002). Nas espécies de peixes que são claramente diurnas, noturnas ou crepusculares os picos de atividades podem estar ligados a atividades de forrageio, defesa de territórios ou reprodutivas.

Além de ritmos circadianos, existem também ritmos de atividades sazonais em peixes. Estudos mostraram existir diferenças sazonais na duração da atividade locomotora circadiana em peixes ciprinídeos (Kavaliers, 1978). Além das variações sazonais reprodutivas, por exemplo, Kaatz e Lobel, (1999) registraram um aumento da produção acústica durante o período reprodutivo de varias espécies.

Smith (2007) fez gravações *in situ* no Lago Niassa, que registraram um aumento de vocalizações na medida em que escurecia, ocorrendo picos noturnos. Estas observações dizem respeito a cinco espécies de ciclídeos, entre elas, *Metriaclima zebra*. Bertucci e colaboradores (2010) mostraram que, em período diurno, o envio de sinais visuais e sonoros provoca uma diminuição da agressividade durante interações entre dois indivíduos machos de *M. zebra*, em comparação ao envio de sinais unicamente visuais. Estes experimentos foram realizados durante o dia.

Se *Metriaclima zebra*, segue os padrões de produção sonora noturnas observadas por Smith (2007), sugere-se a hipótese de que o canal acústico tem maior importância em interações agonísticas noturnas da espécie, devido a perturbação do canal visual pela falta de luminosidade.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho é obter informações sobre os ritmos circadianos dos comportamentos e da produção sonora do peixe ciclídeo *Metriaclima zebra* e observar qual a importância do canal acústico em condições de baixa luminosidade.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evidenciar em laboratório, a produção sonora noturna da espécie;
- Observar, ao longo de ciclos diários, se há mudanças na frequência da produção sonora e nos comportamentos agressivos;
- Analisar, em diferentes condições de luminosidade, a resposta comportamental do peixe a um estímulo acústico enviado.

MATERIAL E MÉTODOS

ESTUDO DO CICLO DIÁRIO

Para responder aos primeiros objetivos, foram realizadas filmagens de longa duração para registrar o comportamento e a produção sonora de grupos de *Metriaclima zebra* mantidos em condições laboratoriais. Antes disso, foi necessário desenvolver um protocolo para permitir o registro das atividades noturnas dos peixes.

Modelo biológico e manutenção em laboratório

Para a realização das filmagens foram utilizados dois grupos de *M. zebra*. O primeiro grupo foi constituído de 22 peixes nascidos no laboratório. As matrizes foram adquiridas junto a Sociedade N'Guyen International (Kingersheim, France). Os animais possuíam idade entre seis meses e dois anos. O comprimento total dos indivíduos variou de 6,5 a 10,1cm. O sexo dos indivíduos mais jovens não era conhecido e os quatro maiores indivíduos eram machos e maduros sexualmente.

O segundo grupo foi constituído de 12 peixes machos de idade aproximada de dois anos adquiridas junto a Sociedade N'Guyen Internacional. O comprimento total médio dos indivíduos foi de $11,1 \pm 0,5$ cm e o peso médio de $25,1 \pm 2,8$ g.

Cada um dos dois grupos de peixes foi mantido em um aquário separado, porém de características semelhantes. Os aquários de manutenção, os mesmos utilizados para o experimento, têm capacidade para 300 litros de água (120X60X50cm) e contam com um filtro externo (Rena Filstar xp3), um sistema de aeração externo, decoração interna e abrigos confeccionados com pedras e cascalhos. O fundo do aquário foi forrado com uma camada de areia de cinco centímetros de espessura. A temperatura da água era mantida à $24 \pm 1^\circ\text{C}$ com auxílio de um termostato e o pH à 8 (Fig. 5). Os animais eram alimentados a cada dois dias com ração granulada para peixes Ciclídeos (JBL NovoRift).

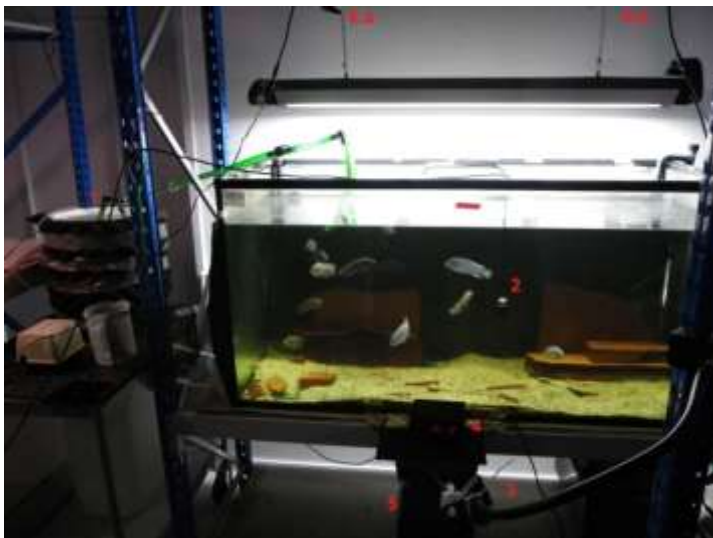


Figura 4 Aquário de experimento (300l) do Laboratório da Equipe de Neuro-Etologia Sensorial (ENES), Saint-Étienne França. 1- Sistema de aeração externa; 2- Hidrofone ; 3- Câmera de vídeo conectada ao computador; 4- Relógio ; 5- Filtro externo ; 6- Spots de luz infravermelho

O sistema de aeração externo desenvolvido pelo técnico Nicolas Boyer compreende um recipiente de 50 litros externo ao aquário. Dois aeradores permanecem em funcionamento aerando a água no recipiente. Este recipiente é ligado por um sistema de canos e bombas que permite a conexão e troca de água entre ambos os recipientes, enviando a água oxigenada por um cano e captando a água do aquário por outro (fig. 4(1)) toda a estrutura é envolvida com espuma para diminuir a produção de ruído. Este sistema permite o registro dos sons produzidos pelos animais sem a perturbação do ruído causado pela aeração.

Para este trabalho não foram obtidos dados específicos sobre as condições do fotoperíodo do local de origem da espécie, o Lago Niassa. Este lago é situado próximo à linha do Equador onde o período diário de iluminação é próximo de 12 horas. As condições de luminosidade in situ dependem da profundidade, ciclo lunar (durante a noite), nebulosidade, entre outros. O ciclo de iluminação diária utilizado em laboratório não pretendia reproduzir um ciclo natural, porém procurou-se implementar um ciclo de diferentes luminosidades e com duração coerente com aquelas que os peixes se deparam no ambiente natural. Os animais foram, assim, submetidos ao ciclo de iluminação de 12 horas de noite (0

lux), um período crepuscular de 2 horas ao amanhecer e outro de 2 horas ao entardecer (ambos com 3,2lx) e um período de 8 horas de dia (165lx) (fig. 05).



Figura 5 Ciclo de iluminação diária em que os animais foram submetidos durante a manutenção e experimentos.

Os peixes do primeiro grupo eram residentes no aquário de manutenção por mais de seis meses, e não sofreram estresse de transporte ou de manipulação para o experimento. Os peixes do segundo grupo eram residentes no aquário há dois meses, porém os animais foram utilizados para os demais experimentos. Para os experimentos apenas alguns indivíduos por vez eram retirados, e permaneciam fora por no máximo 24 horas. Os animais não foram mais perturbados a partir de uma semana antes dos registros.

Dispositivos experimentais

As gravações de longa duração foram realizadas diretamente nos aquários de manutenção. Todo o equipamento necessário foi movido à sala de manutenção durante o experimento. Para o experimento foi introduzido no aquário um hidrofone (Aquarium áudio products H2a-XLR). Para as filmagens foi utilizada uma câmera de vídeo com sensibilidade a infravermelho (BUL-5500-C-PIN. Active Media Concept Technologie, Vallauris, França) em frente ao aquário. O hidrofone foi ligado a um pré-amplificador (Yamaha MLA8, Yamaha Music France, Marne-la-Vallée, França) para compensar sons relativamente fracos. A câmera de vídeo e o pré-amplificador são ligados a uma placa de captação (Osprey 450c) capaz de sincronizar em tempo real os sinais de vídeo e acústicos. Os dados foram estocados no computador ao qual a placa de captação estava ligada.

Experimento Realizado

As gravações foram realizadas durante dois finais de semana, para limitar qualquer barulho parasito exterior relacionado às atividades do laboratório. Os animais não foram alimentados durante este período.

O primeiro grupo de peixes foi filmado durante 72 horas consecutivas (filmagem 1) e o segundo durante 96 horas (filmagem 2).

A principal dificuldade foi o desenvolvimento de uma condição que permitisse filmar as atividades noturnas dos indivíduos. Foi, portanto, considerado o uso de iluminação infravermelho. Assim foi necessário provar que os animais não são sensíveis ao infravermelho, caso o contrário os peixes poderiam estar submetidos a uma iluminação constante, sem haver a perturbação do canal visual durante o período noturno (fig. 6).

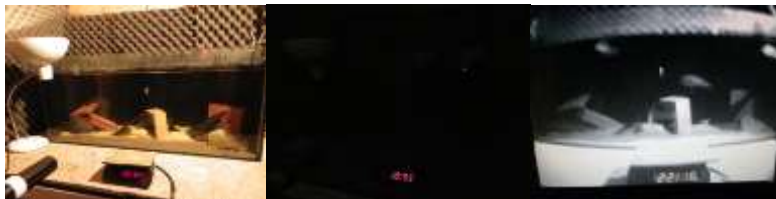


Figura 6 Aquários de experimento (60l) do laboratório da Equipe de Neuro-Etologia Sensorial (ENES), Saint-Étienne, França. Da esquerda para a direita: Imagem de um aquário iluminado (165lx) + infravermelho; ausência de luz + infravermelhos, captadas com uma câmera insensível ao infravermelho; ausência de luz + infravermelhos, capturado com a câmara sensível ao infravermelho.

Na literatura, vários estudos sobre a sensibilidade dos fotorreceptores da retina mostram que ciclídeos não são sensíveis a infravermelho (Parry et al., 2005; Carleton, 2009; Sabbah et al., 2010). No entanto, buscou-se confirmar isso em relação a critérios comportamentais e sob as condições experimentais deste estudo.

Primeiro, foram realizadas observações noturnas na sala de manutenção. O brilho fraco da luz do termostato permitiu distinguir os indivíduos após um tempo de habituação. Ao ascender uma lanterna de luz branca, ainda que fraca, em direção aos peixes, estes se moviam muito rapidamente e se escondiam. Porém, não foi observada nenhuma mudança na natação e comportamento dos animais ao acender a luz infravermelha sobre os mesmos.

Em seguida, foram realizadas experiências de duelos ($n = 5$). Para isso, dois indivíduos foram isolados em dois compartimentos de igual tamanho em um mesmo aquário. Os indivíduos foram separados por uma barreira opaca associado com uma barreira transparente e mantidos isolados por 24 h de isolamento, tempo suficiente para se tornarem residentes no aquário. Os animais foram, então, colocados em interação

visual, removendo a barreira opaca por 10 minutos. Normalmente, na condição de "dia", quando os indivíduos se veem, eles se precipitam um na direção do outro mostrando uma série de comportamentos agressivos (experimentos anteriores realizado no laboratório ENES). Contudo, nenhum evento agressivo foi constatado nas filmagens realizadas em "noite" (0 lx) utilizando o infravermelho. Entretanto, ao utilizar uma luz fraca os animais mostram interesse um pelo outro nadando em direção à barreira que os separava.

Por esta razão durante as filmagens foram utilizados dois *spots* de infravermelho (Velleman CAMIRP3), mantidos ligados durante todo o período dos registros. Os infravermelhos permitiram analisar não apenas as filmagens noturnas, como também as filmagem com luz fraca (3,2lx), uma vez que sem o infravermelho a luminosidade era baixa demais para distinguir os indivíduos nas gravações.

Peixes machos são muito territoriais e escolhem seu território com base no acesso privilegiado aos abrigos. Para não desestabilizar a hierarquia do aquário, na filmagem 1, os abrigos, localizados em posição central no aquário, não foram deslocados. Porém ao analisar os vídeos, percebeu-se que os abrigos impediam a visualização e contagem dos indivíduos, principalmente em condição de "crepúsculo" e "noite".

Por isso, para a filmagem 2, os abrigos foram descolados para parede posterior do aquário permitindo o controle completo das atividades incluindo a determinação do número de indivíduos ocultos. No mesmo sentido, a utilização de um lote de peixes com menos indivíduos (12, em vez de 22), todos adultos, facilitou a análise dos comportamentos.

Análise das filmagens

Os vídeos foram analisados apenas nos períodos em que não houve nenhuma intervenção humana no laboratório que pudesse perturbar os animais. Assim o período analisado foi entre a meia-noite de sexta-feira e meia-noite de domingo (48h filmagem 1) ou até a meia-noite de segunda-feira (72h filmagem 2, com feriado).

Tratamento dos registros de vídeo

A Análise das gravações de vídeo foi realizada com base no etograma da espécie *Metriacilima zebra*. O etograma usado é baseado na descrição do comportamento proposto por Bertucci (2011), que teve por

base os trabalhos de Jordan (2008) e Simões e colaboradores (2008). Os comportamentos considerados foram os seguintes:

- *lateral display* (comportamento de intimidação): O peixe se coloca de maneira perpendicular ao adversário, apresentando seus flancos, arqueando o corpo e abrindo as nadadeiras caudal, dorsal e anal.
- *quiver* (tremor o corpo): O animal, parado na coluna d'água, realiza tremores corporais mantendo suas nadadeiras abertas. Durante este comportamento é frequente a produção de sons.
- Círculos: Dois indivíduos em uma interação agressiva se colocam de maneira antiparalela e realizam um nado em círculos durante poucos segundos.
- Ataques: Com a chegada potencial de um rival em seu território o peixe residente nada de forma rápida em direção ao outro peixe, podendo inclusive haver contato físico com mordidas ao final. Contudo, normalmente o peixe perseguido foge e retoma seu caminho, sendo seguido apenas no início pelo peixe dominante.
- Mordidas: Durante as interações agressivas o peixe pode tentar morder o adversário, geralmente nos flancos. Também pode ocorrer a mordida boca-a-boca com duração de alguns segundos. Em duelos com barreira transparente, ocorre uma série de tentativas de mordidas, onde o animal claramente tenta morder a barreira na altura da boca do indivíduo oponente.
- Manutenção do território: Um macho dominante maneja seu território movendo o substrato ao redor de um abrigo. Esse substrato pode ser removido com a boca ou com golpes de cauda e corpo.
- Forrageio: Os animais raspam com os dentes as algas que crescem nos abrigos, no fundo arenoso e nas paredes do aquário.

Para a filmagem 1 foram observados os cinco primeiros minutos de cada hora durante 48 horas. Neste tempo foi contabilizado o número total de cada comportamento listado acima para o conjunto da população do aquário e o número médio de peixes observados.

Tratamento dos registros de áudio

Todos os sons ouvidos durante as análises das filmagens foram contabilizados. A etapa seguinte (em curso) consiste de classificá-los em função de dois critérios: número de pulsos por som e o contexto comportamental no qual ele foi emitido. Para determinar o número de pulsos, foi realizada uma representação gráfica dos sons, chamada de

Oscilograma (fig. 3) através do programa Audacity 1.3. Esta é uma representação da amplitude sonora do sinal em função do tempo.

ESTUDO DA RESPOSTA AO SINAL ACÚSTICO

Modelo biológico e manutenção em laboratório

Para atender ao segundo objetivo, foram realizados experimentos com duelos entre dois *Metriaclima zebra* machos, em condições de iluminação bem definidas. Para os duelos foram utilizados 32 peixes obtidos do fornecedor (N'Guyen Internacional). Os animais possuíam comprimento total médio de $11,00 \pm 0,9$ cm e peso médio de $24,49 \pm 5,7$ g. Todos os peixes foram marcados subcutaneamente com VIE (Visible Implant Elastomer, Northwest Marine Technology, Shaw Island, WA) próximo à nadadeira dorsal. Essa marca permite a identificação do indivíduo, ao expô-lo sob uma luz ultravioleta, o que permite pareá-los por tamanhos semelhantes para os duelos. Observações mostraram que nem a cor (vermelho ou verde) nem o número de marcas (de 0 a 3 pontos de menos de cinco milímetros de diâmetro) afetam no comportamento ou o status social dos indivíduos.

Os animais foram mantidos em dois aquários de manutenção de 300L (120cm x 60cm x 50cm), cada qual com 16 animais, em duas salas diferentes. Para os duelos, cada animal era retirado de um aquário diferente para que os animais não estivessem familiarizados um com o outro. Animais desconhecidos entre si são mais agressivos, o que favorece o experimento. As condições de manutenção e luminosidade são as mesmas já descritas no primeiro experimento.

Dispositivos experimentais

Durante os duelos, devido a questões éticas, não foi permitido contato direto entre os animais. Em pequenos aquários as lutas podem ser muito violentas e com muitas mordidas, causando estresse e feridas que podem levar a morte dos indivíduos. Desta forma, para os confrontos foram utilizados dois aquários diferentes colocados lado a lado, de forma que os animais pudessem se ver, sem se ouvir nem se tocar. Entre ambos os aquários, uma barreira opaca móvel foi colocada para manter os animais isolados e sem contato visual durante o período de aclimação. Todos os experimentos estão em conformidade com as especificações do comitê de ética da Universidade Jean Monnet de Saint-Etienne, França.

Foram analisadas as respostas comportamentais dos indivíduos testados em condições de iluminação diferentes (“dia” ou “crepúsculo”) e estímulos diferentes (visual + acústico ou visual apenas).

A condição chamada “crepúsculo” foi definida durante a primeira série de experimentos. As experiências de duelo em “crepúsculo” foram realizadas entre as 16h30 e 18h30, horas de “crepúsculo” em que os animais foram aclimatados, para não impor uma perturbação adicional da ordem rítmica nos animais.

Os experimentos foram realizados utilizando dois compartimentos com isolamento acústico (*Silent box*) localizados em uma sala climatizada. Cada *Silent box* possui dois estágios que comportam dois aquários cada, permitindo a realização de dois experimentos por dia por caixa. Uma *Silent box* foi utilizada para os experimentos com luminosidade alta (165lx “dia”) e outra para experimentos com luminosidade baixa (3,2lx “crepúsculo”).

Os aquários experimentais tinham um volume de 60L (60x30x30 cm) e foram equipados da mesma forma que o aquário de manutenção: fundo arenoso, um vaso de barro que serve de abrigo, aerador e termostato. Para reduzir o ruído de fundo e para evitar os fenômenos de reflexão do som, as paredes interiores foram forradas com plástico-bolha, exceto a parede frontal usada para as filmagens e a lateral próxima ao outro aquário, onde os animais mantinham contato visual.

Em cada par de aquários o aquário direito foi utilizado para o peixe a ser “testado”. O peixe testado foi o peixe que recebeu estímulos sonoros. Assim no aquário direito um alto-falante subaquático (UW-30, Electrovoice) funcional foi instalado. Além deste, um hidrofone (H2a-XLR, Aquarian Audio Products) foi usado para recuperar os sons produzidos. O hidrofone foi ligado a um pré-amplificador (Yamaha MLA8) para compensar os sinais relativamente fracos. Os experimentos foram filmados usando uma câmera sensível a infravermelho (BUL 520), cujo campo de imagem permitia registrar os dois aquários. A câmera e o pré-amplificador foram conectados a uma placa de captura (Osprey 450) capaz de sincronizar em tempo real os sinais de vídeo e acústicos que foram enviados para serem registrados em um computador. Um segundo computador foi conectado a um amplificador (Denon PMA-100M), e este conectado ao alto-falante subaquático (UW-30, Electrovoice) para o envio dos estímulos sonoros.

O aquário esquerdo foi usado para o peixe “oponente”. Este peixe servia apenas como estímulo visual ao peixe testado e, portanto não recebeu estímulo acústico. Assim no aquário esquerdo não foi instalado um hidrofone, porém um autofalante não funcional foi instalado no

interior do aquário para manter os mesmos estímulos visuais em ambos os aquários (fig. 7 e 8)

Para os registros de vídeo da condição de luminosidade baixa (3,2lx) foram utilizados *spots* de luz infravermelha (Velleman infrailumination – CAMIRP3), para permitir analisar os comportamentos dos animais. Já no primeiro experimento foi mostrado que os animais não são sensíveis ao infravermelho.



Figura 7 Foto dos aquários do laboratório ENES, mostrando condições experimentais. Na esquerda a fotografia da condição “dia” registrada pela câmera de vídeo. Na direita fotografia da condição “crepúsculo” registrada pela câmera com infravermelho ligado

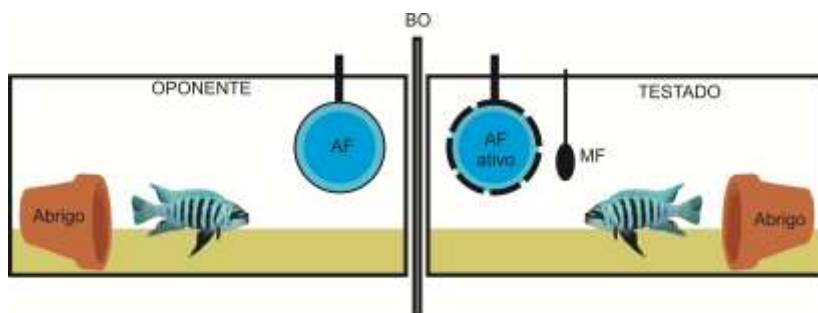


Figura 8 Desenho esquemático da instalação do experimento 2 mostrando: o abrigo, MF: hidrofone, AF: alto-falante; e BO: Barreira opaca.

Estimulação acústica e visual

Os estímulos utilizados no peixe testado durante os duelos foram estímulos visuais e acústicos.

O estímulo visual utilizado foi o peixe “oponente”. Este era mais ou menos visível dependendo da condição luminosa utilizada: 165lx ou 3,2 lx.

A estimulação acústica enviada ao peixe foi o som da própria espécie. Devido às dificuldades em obter sons de boa qualidade durante os experimentos para serem utilizados como playback, os sons utilizados foram provenientes do banco de dados do laboratório. Estes sons são provenientes do registro de machos de *M. zebra* em duelo, de 2 a 3 anos de idade e tamanho total de $11,1 \pm 0,8$ cm. Os sons obtidos mostram certa variabilidade intra e interindividual no que diz respeito à intensidade (sons gravados em diferentes distâncias e diferentes potências), ao envelope sonoro (a forma do conjunto de pulsos) e ao número de pulsos por som. Para evitar diferenças nas respostas comportamentais durante os duelos, ligados a esta variabilidade, todos os sons do banco foram padronizados em função da amplitude, do envelope e do número de pulsos por envelope (padronização realizada pelo pesquisador Paulo Fonseca, visitante do ENES em 2012). Os parâmetros da frequência do som, em particular a frequência fundamental dos pulsos, não foram modificados. É importante não alterar a frequência fundamental, pois esta varia entre os indivíduos, principalmente em relação ao tamanho destes, que é uma informação importante para os peixes.

Ao todo, oito sons provenientes de quatro indivíduos diferentes (2 sons por indivíduo) foram retrabalhados para os playbacks. Cada som é constituído de 8 ± 1 pulsos e foram obtidos de peixes machos de tamanhos equivalentes ao tamanho dos animais utilizados neste experimento. Em cada experimento de playback foram emitidos dois pacotes de sons contendo sons de dois indivíduos diferentes.

Experimento realizado

Ao todo, 16 duelos foram realizados: oito em condições de “crepúsculo” e oito em condições de “dia”. Cada indivíduo foi submetido a apenas um experimento.

Os dois indivíduos de cada duelo provinham de aquários diferentes e foram pareados em tamanho e peso. Uma diferença máxima de 5% de tamanho e peso foi tolerada entre os indivíduos do par. Os animais foram colocados nos aquários experimentais 24h antes do duelo, para aclimação, tempo suficiente para os animais se tornarem residentes no aquário, tendo-o como seu território. Sabe-se que o animal

é residente devido ao comportamento de “manutenção”, no qual o peixe cava depressões na areia, próximo ao abrigo para construir seu ninho. Os indivíduos permaneceram visualmente isolados através da barreira opaca colocada entre os aquários.

Cada experimento teve uma duração de 35 minutos, sendo 30 de filmagens e consistiu em cinco tratamentos sucessivos (fig. 9):

- Período 0: Este período de 5 minutos, é o período de aclimação quando os aeradores são desligados, durante este período os animais não são filmados.

- Período 1 (com parede): Inicia-se as gravações. Os primeiros cinco minutos são um período de controle, durante o qual os peixes não estão interagindo, pois a barreira opaca permanece entre os aquários. Após os primeiros 5 minutos, a parede é removida e o período de interação começa;

- Período 2 (pré-playback): Durante os próximos 5 minutos, os peixes estão em interação visual. Nenhum som é enviado para o peixe testado.

- Período 3 (playback): Durante os próximos 5 minutos, o peixe testado permanece em contato visual com o oponente e recebe estímulos sonoros, som de peixe, através do alto-falante. 10 sons são enviados durante este período, o som é enviado a cada 30 segundos, desde que os peixes estejam em interação. Os sinais são enviados em sequência aleatória (não necessariamente cinco vezes cada um).

- Período 4 (pós-playback): Neste período de 5 minutos, os peixes são mantidos em estimulação visual, após finalizar a estimulação sonora.

- Período 5 (com barreira): Ao terminar o período 4 a barreira é recolocada e os peixes são novamente isolados acusticamente e visualmente. Este período tem duração de 10 minutos, porém apenas os 5 minutos finais são considerados, sendo os 5 minutos iniciais considerados como aclimação após o duelo. Após este período as filmagens são finalizadas e os animais são recolocados no aquário de manutenção.

Antes de iniciar a gravação de vídeo e som, os aeradores, termostatos e a climatização foram desligados para minimizar o ruído de fundo. O protocolo foi totalmente randomizado. Para cada experimento, o tratamento (dia/crepúsculo e playback/ruído branco/silêncio) sofrido pelo peixe testado foi determinado de forma aleatória.



Figura 9 Os seis períodos do experimento de playback realizado: Aclimação (5min), com barreira (5min), Pré-PB (5min), PB (5min), Pós-PB (5min), com barreira(5min). Total de 35 minutos de experimento e 30 de filmagens.

Análise da resposta comportamental

A análise das filmagens foi realizada medindo os atos agressivos sincronizados. Além disso, todos os sons produzidos pelo indivíduo testado foram contabilizados.

Atos agressivos sincronizados

Em cada período de cinco minutos foram feitas observações focais a cada seis segundos, totalizando 50 observações. Em cada observação foi determinada a sincronização de movimentos de ambos os peixes (fig. 10) codificados da seguinte forma: “A” quando os peixes estão alinhados em frente um do outro (tentativa de mordida “boca a boca”) ou quando um indivíduo está perpendicular ao outro (lateral display); “B” quando os indivíduos estão em interação, porém não alinhados; “C” quando os peixes estão em paralelo ou antiparalelo um em relação ao outro (como em duplo lateral display). “D” para qualquer posição fora de interação.

Nos resultados, o somatório das observações dos momentos em “A” é apresentado. Este número dá uma medida de atos agressivos em sincronia, como a tentativa de mordida “boca-a-boca” ou *lateral display*.

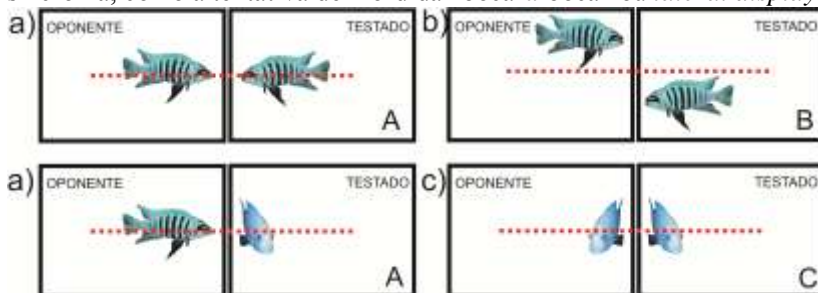


Figura 10 Codificação das posições dos indivíduos em uma interação agressiva. A) Quando uma linha imaginária corta o corpo de ambos os indivíduos e estes estão face-a-face ou perpendiculares um ao outro, codifica-se “A”; B) Quando

estão em interação, porém a linha não toca no corpo de ambos os indivíduos codifica-se “B”; C) Quando estão em paralelo ou anti-paralelo, codifica-se “C”. Não interagindo, codifica-se “D”.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa StatView 4.1. Como testes foram utilizados ANOVA não paramétrica de Kruskal-Wallis e como teste *post-hoc*, o teste de Mann-Whitney.

RESULTADOS

ESTUDO DA ATIVIDADE CIRCADIANA

Análise qualitativa da produção sonora e do comportamento agressivo

Durante as análises foi constatado que *M. zebra* possui um repertório de sons que varia no número de pulsos e também na estrutura. Assim, foram identificados pelo menos dois tipos de sons ao analisar as filmagens: sons associados às interações agonísticas e sons encontrados principalmente durante a noite no grupo adulto (filmagem 2), sem estar associado a interações agonísticas.

O primeiro tipo de som, chamado aqui de “multi-pulsos”, foi encontrado durante as interações agressivas. Em alguns casos, os sons foram produzidos junto a ataques, *lateral display* ou *quiver*, mas nem sempre foram produzidos em associação com um comportamento agressivo em particular. A produção sonora, na maioria dos casos, é produzida por alguns indivíduos muito territoriais (dois ou três) que dominam o grupo. Estes sons são constituídos por um número de pulsos, que varia entre 4 a 12 pulsos. Os sons produzidos por indivíduos mais jovens (fig. 11a) têm menos pulsos do que aqueles produzidos por adultos (fig. 11b).

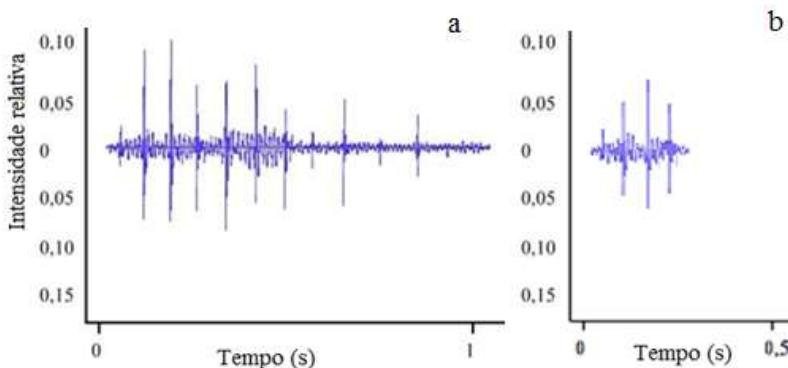


Figura 11 Oscilograma dos sons “multi-pulsos” de *M. zebra*, durante interações agonísticas. A) Som de 11 pulsos de macho adulto, registrado durante o dia na filmagem 2. B) Som de 4 pulsos registrado por indivíduo juvenil, durante filmagem 1.

O segundo tipo de som, chamado de “bi-pulso”, foi percebido principalmente no grupo de adultos e em geral de noite (fig. 12). Os dois pulsos que constituem estes sons são mais longos do que os pulsos presentes nos sons agressivos. A frequência desses pulsos está sendo analisada.

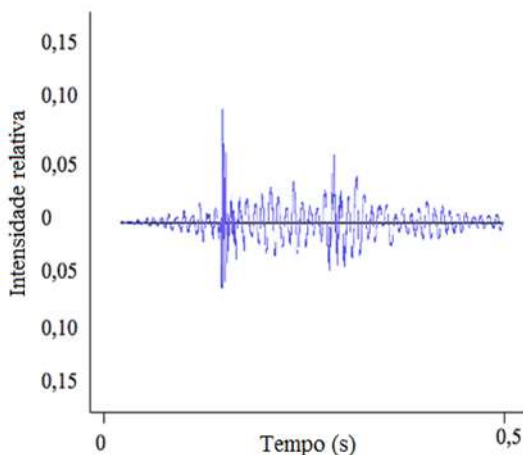


Figura 12 Oscilograma de um som de *M. zebra* macho adulto gravado à noite, chamado de “bi-pulso”. Este som é diferente do som típico encontrado durante uma interação agressiva. É constituído, em geral, por dois pulsos. Ele ocorre principalmente à noite sem estar associado a interações agonísticas.

Análise quantitativa da produção do som e comportamento agressivo

Na primeira filmagem, um total de 120 sons foi contabilizado durante 48 horas.

Todos os sons registrados foram “multi-pulsos”, tais como aqueles que são produzidos durante as interações agressivas. Foram produzidos 71 sons durante a noite (duração: 10h), 16 em “crepúsculo” (4 horas no total) e 33 durante o “dia” (8h).

Os sons das primeiras 24 horas (fig. 13) foram agrupados por horas, e estas por períodos (“dia”, “crepúsculo” e “noite”), para então serem comparados. Existem diferenças significativas no número de sons entre os três períodos, durante as primeiras 24 horas, ocorrendo um aumento da produção durante a “noite” (Kruskal-Wallis, $H_{\text{corrigido por } \epsilon_{\text{quo}}} = 6,419$, $p=0,04$, fig. 14). Os testes post-hoc mostraram diferenças significativas apenas entre a condição de “dia” e “noite” (Mann-Whitney, $Z_{\text{corrigido por } \epsilon_{\text{quo}}} = -1,987$, $p = 0,04$, fig. 14).

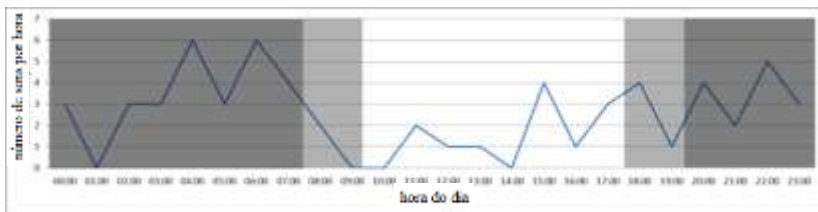


Figura 13 Evolução do número total de sons produzidos por hora durante as primeiras 24 horas da filmagem 1. Todos os sons são sons “multi-pulsos”, tais como aqueles que são produzidos durante as interações agressivas.

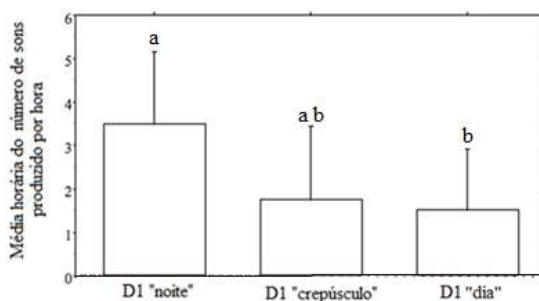


Figura 14 Comparação do número de sons em diferentes condições de iluminação durante as primeiras 24 horas da filmagem 1. Todos os horários são agrupados por período: "dia", "crepúsculo", "noite". Letras diferentes mostram significância a 5%.

Durante o segundo período de 24 horas da filmagem 1 (fig. 15), não há diferenças significativas de produção sonora em função dos períodos de iluminação (Kruskal-Wallis, $H_{\text{corrigido por } \alpha} = -0,996$, $p=0,60$).

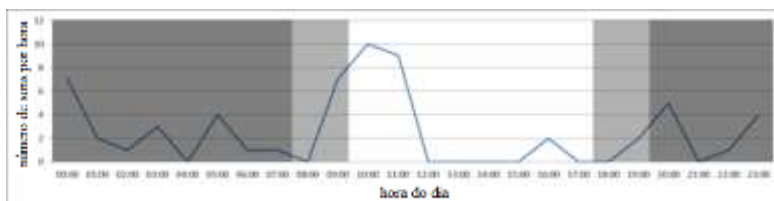


Figura 15 Evolução do número de sons produzidos por hora durante as últimas 24 horas da filmagem 1. Todos os sons registrados foram “multi-pulsos”, tais como aqueles que são produzidos durante as interações agressivas.

Para a filmagem 1, a agressividade total (fig. 16) obtida pela soma de todos os comportamentos agressivos (*quiver*, mordida, *lateral display*, ataques, círculos) foi calculado para cada hora, a partir de um período de 5 minutos considerado representativo. Este total de agressividade foi dividido pelo número de peixes que foram observados em interação agressiva durante os 5 minutos. Os índices de agressividade das primeiras 24 horas foram agrupados por período de iluminação ("dia", "crepúsculo", "noite"). Houve diferenças significativas, dependendo das condições de iluminação (teste de Kruskal-Wallis, $H_{\text{corrigido por } \alpha} = 10,066$, $p = 0,006$). Há menos agressividade na condição de "noite" que em "crepúsculo" (Mann-Whitney, $Z_{\text{corrigido por } \alpha} = -2,835$, $p = 0,004$) e menos agressividade na condição "dia" que em "crepúsculo" (Mann-Whitney, $Z_{\text{corrigido por } \alpha} = -2,216$, $p = 0,02$). Os índices de agressividade das últimas 24 horas de filmagens (segundo dia) quando agrupados por períodos de luminosidade não mostraram diferenças significativas, dependendo das condições de iluminação (Kruskal-Wallis, $H_{\text{corrigido por } \alpha} = 3,686$, $p = 0,15$).

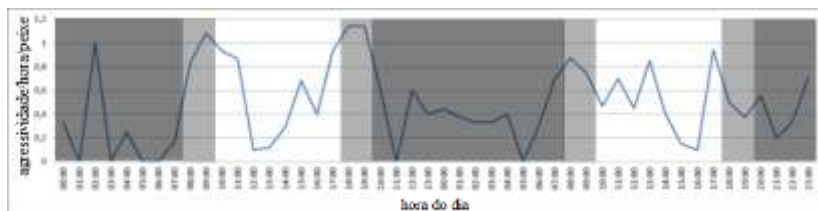


Figura 16 Evolução do total de atividade agressiva por hora de um grupo de 22 indivíduos de *M. zebra* durante 48 horas (filmagem 1).

Na segunda filmagem 398 sons foram contabilizados durante as primeiras 24 horas, porém os resultados da análise quantitativas não foram terminadas e não são apresentados.

ESTUDO DA RESPOSTA AO SINAL ACÚSTICO

Em relação aos duelos em relação às duas condições de iluminação (dia/crepúsculo), apenas os três períodos onde há interação (Períodos 2, 3 e 4) foram tratados, pois nos períodos 1 e 5 não foram observado comportamentos agressivos.

Constata-se uma diferença significativa no número de situações do tipo “A” (fig. 17) (tentativa de mordida boca-a-boca ou lateral display) entre “dia” e “crepúsculo” para os três períodos (Pré-playback; playback de som de peixe e pós-playback) (Mann-Whitney; $n_{\text{crepúsculo}} = 8$, $n_{\text{dia}} = 8$; $Z_{\text{ex-æquo pré-PB}} = -1,983$, $p_{\text{Pré-PB}} = 0,03$; $Z_{\text{ex-æquo PB}} = -1,997$, $p_{\text{PB}} = 0,03$; $Z_{\text{ex-æquo post-PB}} = -1,975$, $p_{\text{Post-PB}} = 0,03$). Ou seja, os indivíduos tem tendência de apresentar menos atos agressivos sincronizados durante um duelo em condições de “crepúsculo” que em condições de “dia”.

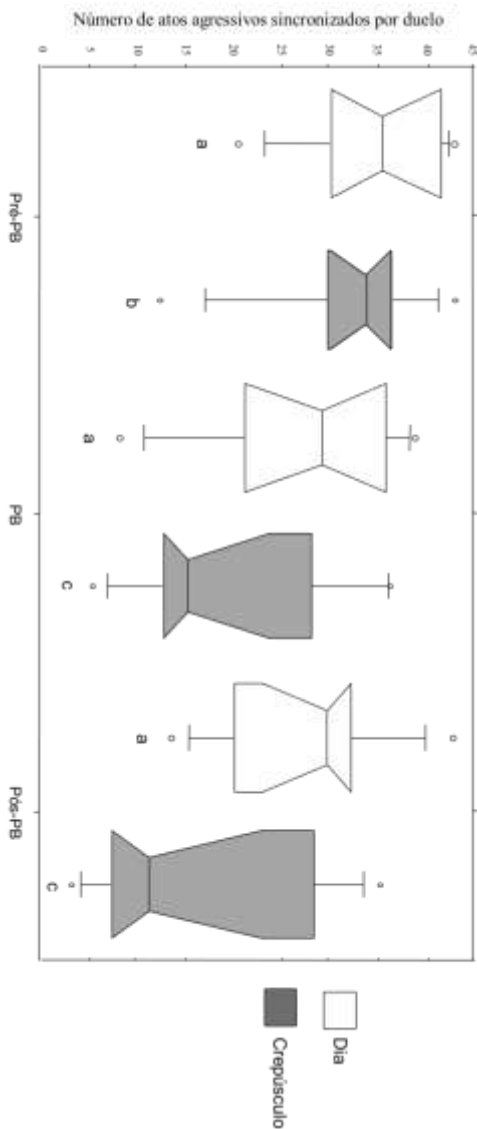


Figura 17 Número de posições do tipo “A” para duelos em condições de “dia” e “crepúsculo” durante os períodos de Pré-PB, Playback e Pós-Playback ($n_{\text{crepúsculo}} = 8$, $n_{\text{dia}} = 8$).

No que se refere apenas a condição “Dia”, quando se comparam os períodos pré-PB, PB e pós-PB, para o sinal emitido (playback do som de peixe), não existem diferenças significativas quanto ao número de situações de tipo “A”. (Kruskal-Wallis, $n_{\text{Pré-PB}} = 8$, $n_{\text{PB}} = 8$, $n_{\text{Pós-PB}} = 8$; $H_{\text{corrigido por ex-æquo}} = 3,342$, $p = 0,18$) (fig. 17 e 18).

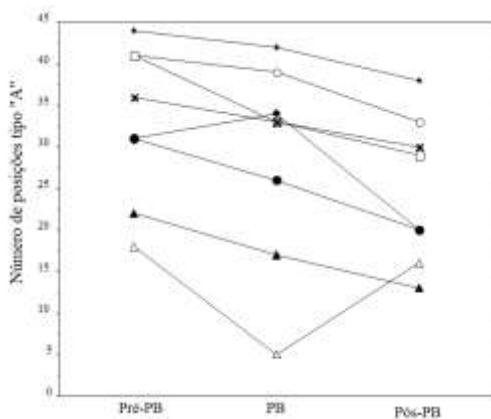


Figura 18 Número de posições do tipo “A” para cada um dos oito duelos durante o "dia" em relação aos tratamentos de pré-PB, PB som de peixe e Pós-PB.

Em "crepúsculo", quando se comparam os períodos pré-PB, PB e pós-PB, percebe-se uma diferença significativa no que se refere ao número de situações do tipo “A”. Os indivíduos são mais sincronizados antes de enviar o sinal acústico (Pré-PB) que durante o envio do sinal (PB) ou após (Pós-PB) (Kruskal-Wallis; $n_{\text{Pré-PB}} = 8$, $n_{\text{PB}} = 8$, $n_{\text{Pós-PB}} = 8$; $H_{\text{corrigido por ex-æquo}} = 6,477$, $p = 0,03$) (fig. 17 e 19). O teste *post-hoc* de Mann-Whitney acusa diferença significativa entre Pré-PB *versus* PB e Pré-PB *versus* Pós-PB ($p < 0,05$), mas não para PB *versus* Pós-PB ($p > 0,05$).

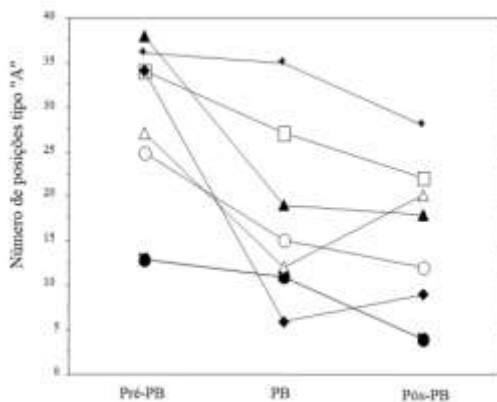


Figura 19 Número de posições do tipo “A” para cada um dos oito duelos em condições de “crepúsculo” durante os períodos de pré-PB, PB de som de peixe e PB-Post (Kruskal-Wallis; $n_{\text{pré-PB}} = 8$, $n_{\text{PB}} = 8$, $n_{\text{Post-PB}} = 8$; $H_{\text{corrigido por ex-aequo}} = 6.477$, $p = 0.03$).

DISCUSSÃO

ESTUDO DA ATIVIDADE CIRCADIANA

Análise qualitativa do som

A análise da produção sonora de *Metriaclima zebra* foi realizada durante três períodos de 24 horas. Ela sugere a existência de pelo menos dois tipos diferentes de sons: os sons encontrados tipicamente durante interações agressivas "multi-pulso" e sons "bi-pulso" observados quase exclusivamente durante a noite e em adultos do sexo masculino. Para os sons de tipo "multi-pulsos" o número de pulsos parece aumentar com o tamanho (idade) dos peixes.

Na literatura, três vocalizações são descritas para ciclídeos: a primeira um "grunhido", é caracterizado por uma série de pulsos de baixa frequência; a segunda se assemelha a uma estridulação de frequência mais alta; e a terceira, mais raro, está associado a movimentos bruscos do corpo (Amorim, 2006).

O "grunhido" é o som "multi-pulso" que pode ser ouvido durante as interações agressivas. Este som também é ouvido durante as interações reprodutivas (Amorim, 2006). Bertucci e colaboradores (2011) mostraram que o número de pulsos do som tipo "grunhido" aumenta de acordo com o crescimento de *M. zebra*. Foi visto que com a idade de 200 dias, os animais produzem sons "mono-pulso", enquanto com a idade de 600 dias, os sons produzidos possuem entre cinco e dez pulsos. Alguns indivíduos do grupo da filmagem 1 possuem idade aproximada de 400 dias (tamanho de cerca de 6,5 cm) e em alguns casos, quando os animais estavam situados próximo ao microfone, foi possível associar animais de pequeno porte aos sons produzidos com menos de quatro pulsos. Estes registos sugerem que o número de pulsos aumenta gradualmente entre 200 e 600 dias. Para confirmar esta progressão gradual, registos individuais serão necessários. Se a evolução progressiva do número de pulsos é confirmada, ela daria indicações sobre a natureza do sistema de produção sonora desta espécie de peixe.

O segundo som identificado, de menos pulsos, parece corresponder ao terceiro som descrito por Amorim (2006). Estes sons, associados a movimentos bruscos do corpo, foram produzidos principalmente à noite e não estão associados com interações agressivas. Além disso, alguns sons são produzidos quando os animais mexem as mandíbulas, mostrando que dentro deste grupo de sons, chamado aqui

de “bi-pulsos”, podem existir ainda, diferentes tipos de sons classificados juntos. A função desses sons é desconhecida, não se sabendo se estes podem servir como sinais. Uma análise mais minuciosa destes registros para tentar definir com precisão o contexto comportamental em que o som foi produzido está em andamento. Essa análise também permitirá definir a frequência fundamental deste som e melhor classificá-lo para poder comparar com os sons descritos por Amorim (2006). Diferenças de produção sonora dia/noite já foram registradas em outras espécies de peixes, por exemplo, Hawkins e Amorim (2000) mostraram que no caso do peixe Arinca (*Melanogrammus aeglefinus*) um dos sons do repertório acústico do macho é emitido principalmente durante o dia.

Análise quantitativa do som

Percebe-se uma grande variação no número de sons produzidos entre os dois grupos, 120 sons durante 48 horas para o primeiro grupo e 398 sons durante 24 horas para o segundo. Dentre as explicações para esta diferença estão que o primeiro grupo, mesmo que possuísse mais indivíduos (22) apenas quatro eram machos maduros e, portanto territoriais. Os demais indivíduos, apesar de serem capazes de produzir sons, são menos agressivos por não serem maduros e, portanto menos sonoros. Já no segundo grupo todos os 12 indivíduos eram sexualmente maduros, o que permite mais vocalizações. Outro fator que pode ter interferido é que no segundo grupo foram feitas modificações no ambiente do aquário, deslocando os abrigos, o que pôde ter causado uma pequena instabilidade hierárquica e com isso mais eventos agressivos e sonoros. Por fim, na primeira filmagem a decoração do aquário permite um grande crescimento de algas nas rochas e os animais ficam constantemente raspando-as, provocando um grande ruído de fundo. Este ruído por sua vez deve ter prejudicado escutar os sons chamados de “bi-pulsos”, o que explicaria também a falta deste tipo de som para a filmagem 1, que resulta também numa menor produção total de sons em relação à filmagem 2.

Sobre as variações circadianas no comportamento e produção sonora, não foi possível estabelecer um padrão de ritmos diário constante durante a filmagem 1. Isto pode ser devido ao baixo número de ciclos estudados (três no total) e deve-se aumentar a amostra antes de se concluir algo. Sokolove e Bushell (1978) indicam que são necessários 10 ciclos diários para poder gerar estatisticamente uma periodicidade cronobiológica. Sob estas condições, é necessário desenvolver um

sistema de alimentação que não desencadeie picos de atividade ou não sincronize a atividade dos indivíduos em relação ao horário de alimentação, uma solução é optar pela alimentação natural permitindo o crescimento de algas nos aquários. Neste trabalho a ausência da alimentação pode ter interferido na expressão do comportamento à medida que o tempo passou, apesar dos peixes serem geralmente confrontados com uma grande variabilidade natural de recursos alimentares no habitat natural (Houlihan et al., 2001)

A atividade circadiana em peixes de água doce pode ser muito instável. Kavaliers (1980) mostrou que a atividade circadiana no peixe *mummichog* (*Fundulus heteroclitus*) pode ser afetada pelo tamanho do grupo, além da organização social e a intensidade da iluminação em que o cardume está exposto.

Mesmo que não houve nenhum padrão consistente de atividade, o primeiro dia da filmagem 1 (48 horas) mostrou um aumento significativo na produção de som durante a noite. Estas observações vão de acordo com o encontrado por Smith (2007) que constatou um aumento da produção sonora de ciclídeos com o cair da noite no lago Niassa. Smith (2007) não esperava tal resultado, vindo da hipótese de que os sons são emitidos principalmente associados à reprodução, que ocorre do dia, pois a fêmea escolhe um macho principalmente devido a sua coloração.

Ao comparar os resultados obtidos em laboratório aos resultados obtidos em ambiente natural, deve-se levar em consideração que as condições laboratoriais podem interferir no comportamento dos animais. Por exemplo, Santiago e Castro (1997) mostraram que a produção sonora do peixe castanheta-preta (*Abudefduf luridus*) varia entre duas populações estudadas: uma em cativeiro e uma em estado selvagem. O som produzido mais frequentemente - uma combinação de 2 pulsos - representa 87% dos sons produzidos pela população selvagem e apenas 49% dos sons produzidos pela população cativa. Em ambiente natural, esse som foi associado principalmente a um comportamento de nado ao redor de abrigo, enquanto que em laboratório o som foi emitido em contextos diferentes, uma vez que o comportamento de nadar ao redor do abrigo não foi nem mesmo observado.

Não existe diferença de agressividade entre “dia” e “noite”, ao mesmo tempo existe maior produção sonora durante a noite e todos os sons analisados são “multi-pulsos”, ou seja, ligados a agressividade. Ao correlacionar estes dois índices para este período, pode-se criar a hipótese de que durante a noite os animais utilizam mais o canal acústico para paliar a perda do canal visual, mantendo assim a hierarquia

e o nível de agressividade igual ao diurno. No entanto, o índice de agressividade não pode ser relacionado de forma segura com a produção sonora, pois este índice é um indicador do número médio de atos agressivos, produzidos num dado momento. A análise detalhada do comportamento centrado em um período de minutos em torno de cada som, que está em curso, deve clarificar o papel dos sons durante a noite. Diferenças na produção sonora circadiana já foram observadas para algumas outras espécies de peixes. Amorim (2005), por exemplo, mostrou que, a atividade de *Eutrigla gurnardus* varia ao longo de 24 horas, com um pico diurno de atividade e também uma maior produção sonora, com os sons possuindo ainda mais pulsos.

Um resultado é claro em relação ao objetivo inicial, foi demonstrada a presença de comportamentos agonísticos acompanhado por sons durante a noite, mesmo que os indivíduos não se percebam visualmente. Isso levanta questões sobre quais canais de comunicação são utilizados durante essas interações. Em particular, qual seria a importância relativa do canal acústico nestas interações noturnas

ESTUDO DA RESPOSTA AO SINAL ACÚSTICO

Os primeiros resultados mostram uma diferença significativa no número de atos agressivos sincronizados observados entre as condições “dia” e “crepúsculo” e isso independentemente do período experimental analisado: pré-PB, que corresponde ao estímulo unicamente visual (visualização do peixe oponente), PB que corresponde a um estímulo visual e acústico (peixe oponente + playback de som de peixe), pós-PB, que corresponde a um período pós-estimulação acústica.

Quanto mais motivados e agressivos estão os peixes, mais tempo eles passam disputando face-a-face, ou seja, sincronizados, durante o combate. Os resultados indicam que os peixes durante o “crepúsculo”, independente do estímulo, são menos agressivos ou estariam menos motivados ao combate. Isso pode ter ocorrido pela questão do canal visual ser prejudicado pela baixa luminosidade, por impedir os indivíduos de perceberem-se totalmente, sabendo que entre os ciclídeos a visão é um importante canal para a comunicação (Jordan et al., 2003; Carleton et al., 2006)

Outro fator de explicação poderia ser o próprio ritmo interno do animal, que caso fosse um peixe principalmente diurno, ele teria naturalmente uma baixa de atividade na medida em que anoitecesse. Acredita-se que este não seja o motivo, uma vez que foi mostrado nos

primeiros experimentos que os eventos agressivos ocorrem durante todo o período do dia sem diferenças entre “dia” e “noite”.

Quanto comparados os três períodos experimentais entre si, ou seja, o período anterior, durante e após o estímulo sonoro (Pré-PB, PB, pós-PB) não se encontrou diferença significativa no número de atos agressivos sincronizados na condição “Dia”, porém ao analisar a condição “crepúsculo” percebe-se uma diferença significativa. Em crepúsculo houve um queda significativa no número de atos agressivos sincronizados durante e após o envio do estímulo acústico. Este resultado sugere que a produção sonora teria mais importância em condição de “crepúsculo” que em condição de “dia”.

De acordo com a literatura os sons produzidos por peixes durante interações agressivas podem servir a diferentes funções, como repelir um intruso do território, modificar a agressividade de um oponente ou avaliar a qualidade de um congênere (Ladich & Myrberg 2006). Mesmo assim o canal visual é tido o como principal canal em interações agonísticas (Jordan et al., 2003) e os estímulos sonoros seriam um reforço ou modulador das informações portadas pelo canal visual (Bertucci, 2011). Por isso os sons produzidos em interações agonísticas de *M. zebra*, quando produzidos, são geralmente associados a comportamentos como *quiver* ou *lateral display* (Jordan, 2008; Simões et al. 2008)

Entretanto a maioria dos estudos é realizada durante o dia onde este estímulo permanece o mais favorável, porém quando, este estímulo é prejudicado, outros canais podem tornar-se mais importantes. O canal acústico por poder codificar informações importantes como o tamanho do indivíduo (Bertucci et al., 2010), mostra-se como um canal propício a ser mais explorado e os resultados encontrados sugerem isso.

Nestes experimentos, a condição de “dia” foi modelada a partir do protocolo experimental de Bertucci e colaboradores (2010). Eles demonstraram que em condição de “dia” (que foi o único testado), durante as interações agonísticas entre dois machos adultos de *M. zebra*, sinais acústicos associados com sinais visuais resultaram em uma diminuição significativa na agressividade em comparação com o sinal visual apenas.

Neste estudo não foi encontrada esta mesma diminuição da agressividade com nenhum dos parâmetros analisados para o período “dia”, apesar de ter sido encontrada para o período “crepúsculo”.

Não está bem claro o porquê dessa diferença nos resultados em relação ao estudo de Bertucci e colaboradores (2010) para a condição “dia”. Neste estudo percebe-se uma tendência de queda dos atos

agressivos sincronizados durante o “dia”, assim talvez ao aumentar o número amostral, repetindo mais vezes o experimento, seria possível chegar a resultados semelhantes aos de Bertucci e colaboradores (2010). Outra possibilidade é que as intensidades luminosas para dia entre ambos os trabalhos tenham diferido. Como se encontrou uma diferença para “crepúsculo” é possível que a condição luminosa utilizada por Bertucci para “dia” tenha sido mais fraca que a do presente estudo.

Em "crepúsculo", quando a percepção visual é prejudicada, os peixes parecem atribuir maior importância ao canal acústico. Estes resultados laboratoriais começam a esclarecer os resultados de Smith (2007) que mostrou que no estado selvagem no Lago Niassa, a comunidade de ciclídeos presentes aumentou a produção sonora na medida em que escurecia, com um pico noturno de produção sonora.

Os dados deste trabalho estão passando por novas análises e outros parâmetros estão em processo final de tratamento. Tendo concluído as análises dos demais parâmetros comportamentais (produção sonora, manutenção de abrigos) acredita-se que as questões em relação à produção sonora de *M. zebra* em baixa luminosidade se tornem melhor esclarecidas.

CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

O presente estudo permitiu, num primeiro momento, descrever as atividades comportamentais e sonoras ao longo de um dia nictêmico para grupos de *Metriaclima zebra*. E auxiliou a destacar a produção sonora noturna associada ou não a interações agressivas para a espécie.

Não foi possível definir um modelo de atividade circadiana único para a espécie no momento. Se este modelo existe, será necessário o registro de vários ciclos de atividade em condições controladas e comparáveis para descrevê-lo.

No geral, poucos estudos cronobiológicos consideraram a produção sonora de um grupo em interação. Os estudos têm frequentemente focado em registros individuais, o que facilita a localização de sons (quem emite o quê) em comparação com os registros de grupos. Todavia este estudo permite lançar as bases para um questionamento mais amplo dos ritmos de comunicação em animais e em particular sobre a variação circadiana na utilização de diferentes canais em uma comunicação multimodal, como a de *M. zebra*.

A existência de interações agressivas noturnas, acompanhados de sons permitiu abordar o segundo objetivo deste trabalho, ou seja, a questão da importância relativa dos canais acústicos e visuais em condições de pouca iluminação. Os primeiros resultados apresentados mostram que em "crepúsculo" a agressividade durante uma interação agonísticas é mais fraca do que na condição "dia". Além disso, em "crepúsculo", os peixes parecem ser mais sensíveis aos sinais acústicos que na condição "dia". Assim as interações agonísticas entre dois machos de *M. zebra* parecem variar conforme a intensidade luminosa. Além disso, o canal acústico parece aumentar em importância quando a luz é baixa, talvez para compensar a falta de informação visual.

Os dados não foram ainda totalmente analisados e será interessante de estudar o comportamento do oponente, que não recebe sinais acústicos. Outras variáveis (no processo de tratamento), tal como o comportamento de manutenção do território, pode também ser alterado pelo nível de luminosidade e serão analisados. *M. zebra* é capaz de produzir sons, mas não o faz tão frequentemente como outras espécies de ciclídeos, mesmo assim será importante analisar os sons produzidos pelos peixes testados, mesmo que haja poucos sons produzidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A. (1992) **Rhythms in fishes**. M. Plenum Press, New York, 348 p.
- ALMEIDA, O.G., Miranda, A., Frade, P., Hubbard, P.C., Barata, E.N. & Canário, A.V.M. (2005). **Urine as a social signal in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*)**. Chemical Senses, 30 : 309-310
- AMORIM, M.C.P. (2005). **Diel and seasonal variations of sound production in captive grey gurnards *Eustrigle gurnardus***. Acta Zoologica Sinica, 51(6) : 1013 – 1022
- AMORIM, M.C.P. (2006). **Diversity of sound production in fish**, 71-105. In: LADICH, F., COLLIN, S.P., MOLLER P. & KAPOOR, B.G. eds. (2006). **Communication in Fishes**, Enfield, New Hampshire: Science Publishers
- AMORIM, M.C.P., FONSECA, P. J. & ALMADA, V. C. (2003). Sound production during courtship and spawning of *Oreochromis mossambicus*: male-female and male-male interactions. Journal of Fish Biology, 62 : 658-672
- AMORIM, M.C.P., KNIGHT, M.E., STRATOUDAKIS, Y. & TURNER, G.F. (2004). **Differences in sounds made by courting males of three closely related Lake Malawi cichlid species**. Journal of Fish Biology, 65 : 1358-1371
- BERTUCCI, F. (2011). Communication acoustique chez un poisson cichlidé : Analyse expérimentale du rôle et de la structure des signaux. Thèse du doctorat, Université Jean Monnet, Saint-Étienne, 154 p.
- BERTUCCI, F., BEAUCHAUD, M., ATTIA, J., MATHEVON, N. (2010). **Sounds modulates males aggressiveness in a Cichlid Fish**. Ethology, 116 : 1179-1188
- BERTUCCI, F., BEAUCHAUD, M., ATTIA, J., BOUCHUT, C., MATHEVON, N. (2011). **Ontogenesis of agonistic vocalisation in the cichlid *Metricalima zebra* (Preliminary results)**. In : BERTUCCI, F., 2011. **Communication acoustique chez un poisson Cichlidé : Analyse**

expérimentale du rôle et de la structure des signaux. These du doctorat, UJM, Saint-Etienne, 153 p.

CARLETON, K.L., SPADY, T.C. & KOCHER, T.D. (2006). **Visual communication in East African cichlid fishes: diversity in a phylogenetic context.** In: LADICH, F., COLLIN, S. P., MOLLER P. & KAPOOR, B. G., eds. (2006) **Communication in Fishes**, 485—516. Enfield, New Hampshire: Science Publishers.

CARLETON, K (2009). **Cichlid fish visual systems: mechanisms of spectral tuning.** Integrative Zoology, 4 (1) : 75–86

EGNOR, S.E.R. & HAUSER, M.D. (2006). **Noise-induced vocal modulation in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*).** American Journal of Primatology, 68 : 1183-1190

ERIKSSON, L. O. (1978). **Nocturnalism versus diurnalism: dualism within fish individuals**, 69-90. in THORP, J. Ed., **Rhythmic Activity of Fishes.** Academic Press, New York

FISHBASE (2012). **Fishbase : A global information system on fishes.** Disponível em <http://www.fishbase.org/> acesso junho-2012

GIAQUINTO P.C. & VOLPATO G.L. (1997). **Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia.** Physiology and behaviour, 62 : 1333-1338

GORDON, S.D. & UETZ, G.W. (2011). **Multimodal communication of wolf spiders on different substrates: evidence for behavioural plasticity.** Animal Behaviour, 81 : 367-375

HAWKINS, A.D. & AMORIM M.C.P. (2000). **Spawning sounds of the male haddock, *Melanogrammus aeglefinus*.** Environmental Biology of Fishes, 59 : 29-41

HOARE, D.J. & KRAUSE, J. (2003). **Social organisation, shoal structure and information transfer.** Fish and Fisheries, 4 : 269-279

HOULIHAN, D., BOUJARD, T. & JOBLING, M. (2001). **Food intake in fish.** Wiley, Oxford, 440 p.

JANSSEN, J. & STRICKLER, J.R. (2006). **Hydromechanical communication via the lateral line: Copepodology for Ichthyologist**, 207-222. In: LADICH, F., COLLIN, S. P., MOLLER P. & KAPOOR, B. G., eds. (2006). **Communication in Fishes**, Enfield, New Hampshire: Science Publishers

JORDAN C. (2008). **Color-based association among heterospecifics in lake Malawi rockdwelling Cichlids**. *Ethology*, 114 : 272-278

JORDAN, R., KELLOGG, K., JUANES, F. & STAUFFER, J. JR (2003). **Evaluation of female mate choice cues in a group of Lake Malawi mbuna (Cichlidae)**. *Copeia* 2003 : 181-186

KAATZ, I. M. & LOBEL, P. S. (1999). **Acoustic behavior and reproduction in five species of Corydoras catfishes (Callichthyidae)**. *Biol. Bull.*, 197 : 241–242

KAVALIERS, M. (1978). **Seasonal changes in the circadian period of the lake chub, *Couesius plumbeus***. *Can. J. Zool.*, 56 : 2591-2596

KAVALIERS, M. (1980). **Social groupings and circadian activity of the killifish, *Fundulus heteroclitus***. *Biol. Bull.*, 158 : 69-76

KODRIC-BROWN, A. (1998). **Sexual dichromatism and temporary color changes in the reproduction of fishes**. *American Zoologist*, 38 : 70-81

KONINGS, A. (2007). **Malawi cichlids in their natural habitat**, 4^a ed. Cichlid Press, El Paso, Texas, EUA

KORNFIELD, I. & SMITH, P.F. (2000). **African cichlid fishes: Model systems for evolutionary biology**. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31: 163-196

KORZAN, W J., ROBISON, R.R., ZHAO, S. & FERNALD, R. D. (2008). **Color change as a potential behavioral strategy**. *Hormones and Behavior*, 54 (3) : 463–470

KULLANDER, S.O. (1998). **A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes)**, 461-498, In: L.R. MALABARBA, R.E. REIS, R.P. VARI, Z.M.S. LUCENA &

LUCENA eds. **Phylogeny and classification of Neotropical fishes.** Edipucrs, Porto Alegre

LADICH, F. & MYRBERG, JR. A. A. (2006). **Agonistic behavior and acoustic communication**, 121-148 In: LADICH, F., COLLIN, S. P., MOLLER P. & KAPOOR, B. G., eds (2006). **Communication in Fishes**, Enfield, New Hampshire: Science Publishers.

LOBEL, P. S. (2001). **Acoustic behaviour of cichlid fishes.** Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences, 9 : 167-186

MORAN, P., KORNFIELD, I. & REINTHAL, P. (1994) **Molecular systematics and radiation of the haplochromie cichlids (Teleostei: Perciformes) of Lake Malawi.** Copeia 2 : 274-288

MULLER, K. (1978). **The flexibility of the circadian system of fish at different latitudes.** 91-104 in J. Thorpe, Ed. (1978) **Rhythmic Activity of Fishes.** Academic Press, New York.

MYRBERG, A.A.J., KRAMER, E. & HEINECKE, P. (1965). **Sound production in cichlid fishes.** Science 149 : 555-558

O'CONNOR, K.I., METCALFE, N.B. & TAYLOR, A.C. (2000). **Familiarity influences body darkening in territorial disputes between juvenile salmon.** Animal Behaviour, 59 : 1095-1101

PARRY, J.W.L., CARLETON, K.L., SPADY, T., CARBOO, A., HUNT, D.M. & BOWMAKER, J. K. (2011). **Mix and match color vision: Tuning spectral sensitivity by differential opsin gene expression in lake Malawi cichlids.** Current Biology 15 (19) : 1734–1739.

PARTRIDGE, B.L. (1982) **Structure and function of fish schools.** Scientific American, 245 : 114-123.

POUGH, F. H., HEISER, J. B., JANIS, C. M. (2008). **A vida dos vertebrados.** 4. ed. São Paulo: Atheneu. 750 p.

REEBS, S.G. (2002). **Plasticity of diel and circadian activity rhythms in fishes.** Fish Biol. Fish, 12 : 349–371.

- RICE, A.N. & LOBEL, P.S. (2002). **Enzyme activities of pharyngeal jaw musculature in the cichlid *Tramitichromis intermedius*: implications for sound production in cichlid fishes.** Journal of Experimental Biology, 205 : 3519-3523
- SABBAH, S., LARIA, R.L., GRAY, S.M., & HAWRYSHYN, C.W. (2010). **Functional diversity in the color vision of cichlid fishes.** BMC Biology 8 : 133
- SANTIAGO, J.A. & CASTRO, J.J. (1997). **Acoustic behaviour of *Abudefduf luridus*.** Journal of Fish Biology 51 : 952-959
- SIMÕES, J. M., DUARTE, I. G., FONSECA, P. J., TURNER, G. F. & AMORIM, M. C. (2008). **Courtship and agonistic sounds by the cichlid fish *Pseudotropheus zebra*.** Journal of the Acoustical Society of America, 124 : 1332-1338
- SIEBECK, U.E. (2004). **Communication in coral reef fish: the role of ultraviolet colour patterns in damselfish territorial behaviour.** Animal Behaviour, 68 : 273-282
- SMITH, A. R. (2007). **Is Acoustif communication a candidate signal for sexual selection in malawian cichlids?** Thesis Master of science. Bowling Green State University. Bowling Green. USA. 48p.
- SOKOLOVE P. G. & BUSHELL W. N. (1978). **The chi-square periodogram: its utility for analysis of circadian rhythms.** J. Theo. Biol., 72 : 131-160
- VEERAPPAN, N., PANDI V. & BALASUBRAMANIAN, T. (2009). **Sound production behaviour in a marine croaker fish, *Kathala axillaris* (Cuvier).** World Journal of Fish and Marine Sciences 1 (3) : 206-211
- VERZIJDEN, M.N., VAN HEUSDEN, J., BOUTON, N., WITTE, F., CATE, C. & SLABBEKOORN, H. (2010). **Sounds of male lake Victoria cichlids vary within and between species and affect female mate preferences.** Behavioral Ecology, 21 : 548-555